Hufnagel, A. 1918. *Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Lépidoptère (Hyponomeuta padella L.).* Arch. Zool. expér. gén. 57: 47-202.

Lyonett, P. 1760. *Traité anatomique de la chenille qui ronge le bois de saule.* Den Haag. 587 S. 18 Taf.

Nüesch, H. 1952. *Über den Einfluss der Nerven auf die Muskelentwicklung bei Telea polyphemus (Lepid.).* Revue Suisse Zool. 59: 294-301.

— 1953. *The Morphology of the Thorax of Telea polyphemus (Lepidoptera). I. Skeleton and Muscles.* J. Morph. 93: 589-609.

Pantin, C. F. A. *Microscopical Technique.* 1948.

Zawarzin, A. 1924. *Über die histologische Beschaffenheit des unpaaren ventralen Nervs der Insekten.* Z. wiss. Zool. 122: 97-115.

— 1924a. *Zur Morphologie der Nervenzentren. Das Bauchmark der Insekten.* Z. wiss. Zool. 122: 323-424.

No 8. **M. Reiff,** Basel. — Nachweis des fermentativen Abbaus der DDT-Wirksubstanz mit Fliegenextrakten im Papierchromatogramm. (Grundlagen zur Resistenzforschung. 2. Mitteilung). (Mit 3 Textabbildungen.)

(Aus den Forschungslaboratorien der J. R. Geigy A.G.)

Einleitung. Schon seit ein paar Jahren sind die Erscheinungen der Resistenz von verschiedenen Insektenarten gegenüber der DDT-Wirksubstanz bekannt. Aber trotz einer bereits grossen Serie von Publikationen über das Resistenzgeschehen ist das Problem bisher noch ungelöst.

Als Ausgangspunkt unserer Bearbeitung der physiologischen Unterschiede zwischen normal sensiblen (N) und gegenüber der DDT-Substanz hochresistent gezüchteten (R) Stämmen von *Musca domestica* L. dienen die in Abb. 1 kurvenmässig dargestellten Reaktionscharakteristiken von 2 Stämmen.

Versucht man nun, die für diese grosse physiologische Umstimmung bei resistenten Fliegen verantwortlichen Vorgänge zu

gruppieren, so gelangt man, in Übereinstimmung mit den Auffassungen von Wiesmann, zum Schema von Abbildung 1. Mindestens 3 grosse Gruppen von Mechanismen sind festzustellen: 1. Erschwerte Aufnahme von Wirksubstanz in den Körper bei kurzer Zeiteinwirkung, 2. verbesserte Möglichkeiten zur Giftspeicherung, 3. verstärkter Entgiftungsmechanismus.

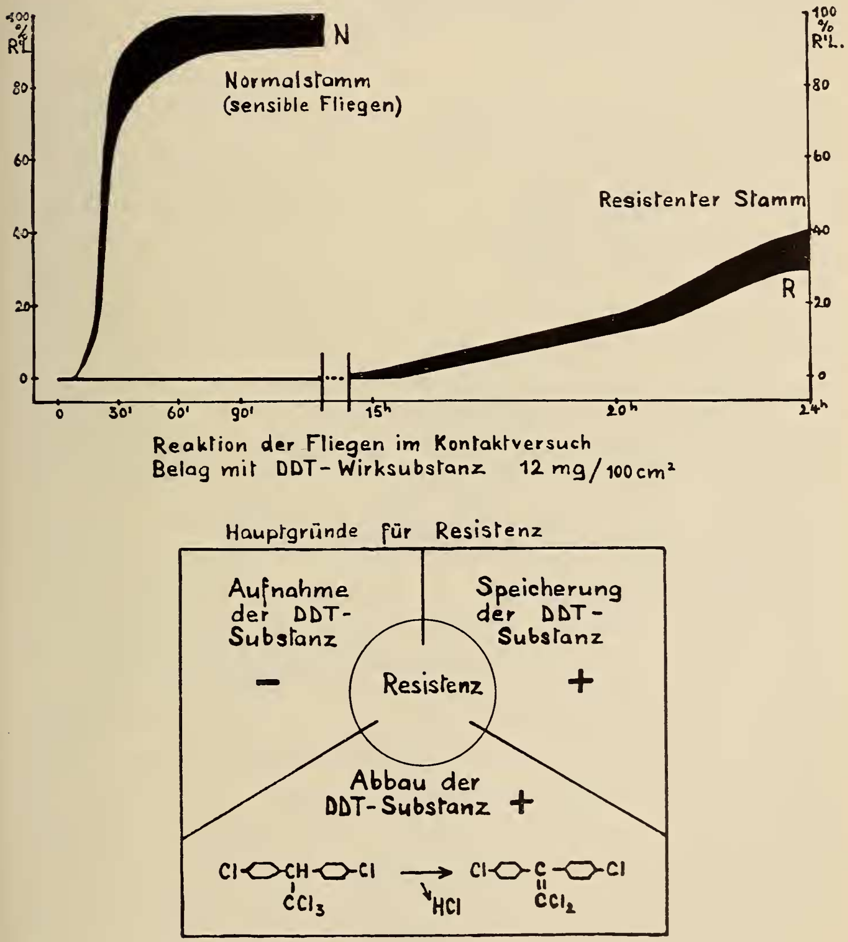


Abb. 1.

Oberer Teil: Unterschied in Empfindlichkeit bei sensiblen (N) und resistenten (R) Fliegen. Kurvenbänder mit Mittelwerten der Reaktion (Rückenlage).
Unterer Teil: Schema über die wichtigsten Faktorengruppen, die für Resistenz verantwortlich sind.

Im Folgenden wird nur der fermentative Abbau der DDT-Substanz zur ungiftigen Aethylenverbindung berücksichtigt. Nach biochemischen Untersuchungen von STERNBURG et al. greift für die HCl-Abspaltung ein Ferment oder ev. eine Fermentgruppe (Dehydrochlorinase) ein.

Die Prüfung der Abbauvorgänge beim N- und R-Stamm geschah mit einer neuen Methodik in Kombination mit Papierchromatographie und Papierelektrophorese; ein Vorgehen, das auch weitere Testmöglichkeiten eröffnet.

M e t h o d i k . Der ganze Arbeitsgang ist in Abbildung 2 dargestellt. Homogenatherstellung: Verpuppungsreife Larven, resp. adulte 3—4 tägige Fliegen in physiologischer Kochsalzlösung oder 0,2 M Glycerin- oder Zuckerlösung in Mörser oder Homogenisator (Polytron-Apparat) zerkleinert. Flüssigkeitsmenge 4- höchstens 6-facher Betrag des Lebendgewichtes der Tiere, z. B. pro 100 Fliegen 6—10 ccm. Eiskühlung. Zentrifugierung (3000 U.): 3 Min., dann Entfernung der obersten lipoidhaltigen Schicht, sowie des festen Depots. Eiskühlung. Mittlere Schichten nochmals 3 Min. zentrifugieren, dann flüssige und leicht gelige Phase durchmischen und verwenden. Aufbewahrung bis zu 24 Stunden im Kühlschrank möglich. Papierchromatographie: aufsteigendes Verfahren mit Kochsalz-, Puffer- oder Glycerinlösung, Papier SS 2043 *b*. Verteilung der Anteile erwartungsgemäss gering, zusammenhängende Proteinzone von R_f 0,4—0,9. Fermentaktivität (z. B. auch Dopareaktion) bleibt aber erhalten. Lufttrocknung. Papierelektrophorese: Apparat Elphor H, Laufzeit 6—12 Stunden, Lufttrocknung. Fermentierung: Imprägnierung von Filterpapier SS 2043 *b* mit alkoholischer DDT-Lösung, pro 100 cm² Fläche 10 mg Reinsubstanz. Inkubation nach Besprayen der beiden übereinander liegenden Papiere mit Puffer- oder Kochsalzlösung und Aufbewahrung zwischen Glasplatten. Lufttrocknung. Nachweis des Abbaus der DDT-Substanz: 1. färberisch auf Papier mit Rhodamin B-Nilblausulfat und UV-Beobachtung, aber nicht quantitativ; 2. quantitativ chemischer Nachweis (Methode SCHECHTER-HALLER); 3. Biotest mit sensiblen (N) Fliegen. Der Abbau des Insektizids zeigt sich in der Reaktion der Fliegen, da nach 1½ Stunden Testzeit theoretisch alle Fliegen in Rückenlage (↓) sein sollten. An den Abbauzonen trifft man aber Fliegen an, die nur leichte Krampfsymptome (K) oder gar keine Vergiftung (n) zeigen.

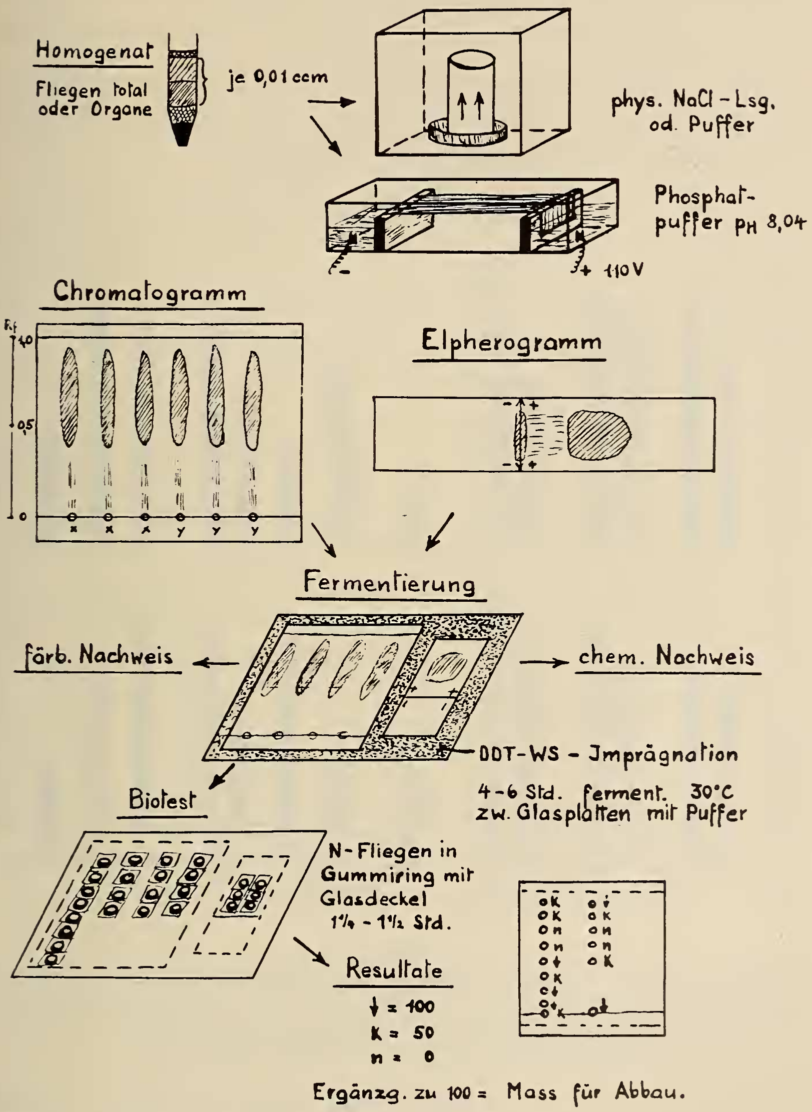


Abb. 2.

Schematische Darstellung der Arbeitsganges für den Nachweis des fermentativen Abbaus. Lösungsmittel für Papierchomatographie: 0,9% Kochsalzlösung oder Phosphatpuffer nach Sœrensen pH 8,04, 1/15 M; oder 0,1-0,2 M Glycerin, resp. Zucker in Wasser. Für Papierelektrophorese: Phosphatpuffer nach Sœrensen pH 8,04, 1/15 M.

Berechnung des Abbauwertes: Die Durchschnittszahl aus der Klassierung $D = \frac{(n_1 . 100) + (n_2 . 50) + (n_3 . 0)}{n_1 + n_2 + n_3}$, entsprechend der Anzahl Fliegen mit Rückenlage (100), Krampf (50) oder symptomlos (0) ergibt das Resultat des Biotestes. Als indirektes Mass für den fermentativen Abbau gilt die Zahl 100-D.

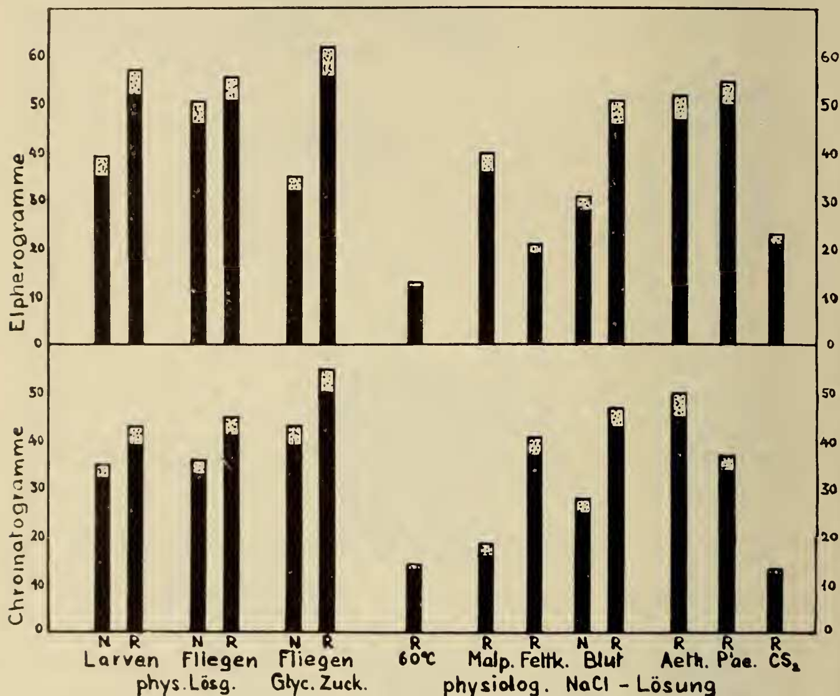


Abb. 3.

Durch den Biotest ermittelte Abbauwerte ausgehend von Totalhomogenaten und Organextrakten. Punktierte Flächen auf den Säulen repräsentieren die im Biotest mögliche Streuung der Einzelresultate. N = Präparationen vom sensiblen Fliegenstamm, R vom resistenten Stamm.

Resultate. In Abbildung 3 sind einige Ergebnisse, parallel nach Papierchromatogramm und Papierelektrophorese geordnet, als Mittelwerte aus jeweils mehreren Versuchsserien mit je 50—150 Bioteststellen zusammengefasst. Die beiden ersten Säulengruppen links beziehen sich auf Resultate mit Homogenaten ganzer Tiere (Totalhomogenate) bei Präparation in physiologischer Koch-

salzlösung. Sowohl bei Larven als auch bei adulten Fliegen konnte festgestellt werden, dass auch die N-Tiere die Fähigkeit zum Abbau des DDT-Wirkstoffes besitzen, aber in geringerem Masse als die resistenten. Sehr gute Abbauwerte wurden auch bei Präparation und Fermentierung mit 0,1—0,2 M Glycerin- oder Zuckerlösung erreicht. Die Einwirkung von 60° C auf das Homogenat oder die Fermentierung ergibt eine starke Schädigung der Aktivität.

Auch den Proteinextrakten aus Malpighi'schen Gefässen und Fettkörpern von Larven, sowie der Haemolymphe von Larven und Imagines kommen deutliche Wirkungen zu. Bei der Behandlung des Totalhomogenates mit organischen Lösungsmitteln wird Äther ohne Schädigung ertragen, Petroläther und besonders Schwefelkohlenstoff oder Chloroform beeinträchtigen die Aktivität.

Diese letzten Angaben zeigten bereits, dass mit der vorliegenden Methode die Beeinflussung der Fermentaktivität recht gut abgeklärt werden kann. Zur Prüfung von Modellsubstanzen, z. B. von Inhibitoren der Dehydrochlorinase, können diverse Stoffe entweder dem Homogenat, oder dem Lösungsmittel bei der Chromatographie zugesetzt werden. Schliesslich lässt sich auch bei der Fermentierung die Beeinflussung durch Zusätze untersuchen. Diesbezügliche Resultate bleiben einer ausführlicheren Arbeit vorbehalten.

Nachprüfungen mit chemischem Nachweis der noch an den fermentierten Stellen vorhandenen Menge DDT-Substanz haben ergeben, dass bei guten Abbauverhältnissen 15—25% Wirkstoff fehlen. Das Insektizid wird vermutlich vor allem an der Oberfläche des imprägnierten Papiers abgebaut; dies ist aber diejenige Schicht, die im Biotest die Vergiftung verursachen würde. An allen Stellen ausserhalb den Proteinzonen der Auflage, reagieren die Fliegen mit Rückenlage.

Aus den vorliegenden Resultaten geht klar hervor, dass bei unsern Stämmen sowohl sensible als auch resistente Fliegen den fermentativen Abbau ausführen können. Dieses Ergebnis stimmt mit denjenigen von Perry et al. und Babers et al. überein, währenddem Sternburg und Mitarbeiter die Dehydrochlorierung nur bei resistenten Stämmen nachweisen können. Auch in unserem Falle ist ein quantitatives Überwiegen beim R-Stamm deutlich, jedoch kann von diesem einen Faktor aus die hohe Resistenz nicht erklärt werden. Die bessere Abbauwirkung stellt nach allen bisherigen Kenntnissen nur einen Teilprozess (Schema Abb 1) im

ganzen Geschehen der so weitgehenden Unempfindlichkeit bei R-Fliegen dar.

LITERATUR

Babers, F. H. & J. J. Pratt. 1953. *Resistance of insects to insecticides: the metabolism of injectet DDT.* J. econ. Ent. 46: 977.

— & C. C. Roan. 1953. *The dehydrochlorination of DDT by resistant cockroaches.* J. econ. Ent. 46: 1105.

Perry, A. S. & W. M. Hoskins. 1951. *Detoxification of DDT as a factor in the resistance of house flies.* J. econ. Ent. 44: 850.

Schechter, M. S., Soloway, S. B., Hayes, R. A. & H. L. Haller. 1945. *Colorimetric determination of DDT. Color test for related compounds.* Ind. Eng. Chem.-Anal. Ed. 17: 704.

Sternburg, J., Winson, E. B. & C. W. Kearns. 1953. *Enzymatic dehydrochlorination of DDT by resistant flies.* J. econ. Ent. 46: 513.

Wiesmann, R. 1955. *Der heutige Stand des Insektizid-Resistenzproblems. (Grundlagen zur Resistenzforschung. 1. Mitteilung).* Mitt. Biol. Reichsanst. Land- & Forstw. Berlin-Dahlem. Pflanzenschutztagung d.B.B. in Bad Neuenahr 1954 (im Druck).

No 9. **Marguerite Narbel-Hofstetter,** Lausanne. — La pseudogamie chez *Luffia lapidella* Goeze (Lépid. Psychide). (Communication préliminaire. Avec 1 figure et 2 tabelles.)

(Laboratoire de Zoologie de l'Université de Lausanne.) Travail subventionné par le Fonds national suisse de la recherche scientifique.

Le genre *Luffia* se divise en deux espèces, *L. lapidella*, bisexuée, et *L. ferchaultella*, parthénogénétique, la deuxième dérivant probablement de la première et présentant les caractères d'une parthénogénèse géographique thélytoque. Les populations de *lapidella*